

Renal dysplasi hos engelsk cockerspaniel

Maria Jonasson

Handledare: Maria Hurst
Inst. BVF, Avd. för patologi, farmakologi och toxikologi
Biträdande handledare: Lena Pelander
Inst. för kliniska vetenskaper

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING	3
SUMMARY	4
INLEDNING	6
LITTERATURÖVERSIKT	7
NJUREN	7
<i>Nefronet</i>	7
<i>Embryologi</i>	9
<i>Defenition av juvenila nefropatier</i>	10
RENAL DYSPLASI.....	11
<i>Bakgrund</i>	11
<i>Kliniska symtom</i>	11
<i>Patologi</i>	12
<i>Diagnostik</i>	13
<i>Behandling</i>	13
HEREDITÄR NEFROPATI.....	14
<i>Bakgrund</i>	14
<i>Symtom</i>	15
<i>Patologi</i>	15
<i>Diagnostik</i>	16
MATERIAL OCH METODER.....	16
RESULTAT	17
DISKUSSION.....	22
TACK.....	26
LITTERATURFÖRTECKNING	27

SAMMANFATTNING

Renal dysplasi (RD) är en medfödd kronisk njursjukdom som drabbar unga hundar. Det är en relativt vanlig sjukdom som förekommer hos ett stort antal hundraser och hos en del av dessa finns det en familjär utbredning eller misstänkt hereditär bakgrund. Både etiologi och patogenes är dock fortfarande okända, men en teori om orsaken till RD är att de två komponenter som bildar njuren, den metanefriska divertikeln och det metanefrogena blastemet, inte interagerar normalt i embryot. Vid RD innehåller njurarna fetala (omogna) strukturer som inte stämmer överrens med individens utveckling/ålder samt onormala strukturer orsakade av en felaktig differentiering. Hundarna som drabbas är oftast under två år gamla och de uppvisar kliniska symtom på kronisk njursvikt. Det finns ingen behandling utan hundar med RD dör eller avlivas vanligtvis efter det att de utvecklat symtom. Diagnosen ställs via histopatologi och de primära förändringar som kan ses är fetala glomeruli/tubuli, tubulär dysplasi, persisterande fetal bindväv (mesenkym), persisterande primitiva (metanefriska) gångstrukturer och dysontogen metaplasia.

Inom rasen engelsk cockerspaniel finns det i Sverige ett kontrollprogram för RD med central registrering hos SKK (Svenska kennelklubben) av diagnostiserade fall. Förutom RD finns det inom rasen en annan medfödd njursjukdom, hereditär nefropati (HN), vilken precis som RD drabbar unga hundar. Till skillnad från RD har man kunnat bevisa att HN orsakas av en mutation i genen COL4A4, som ger en defekt i kollagen IV, en viktig komponent i det glomerulära basalmembrandet (GBM). Mutationen nedärvs autosomt recessivt. Det defekta kollagenet ger en multilaminär, longitudinell isärsprängning av GBM vilket leder till proteinläckage i glomeruli. Hundarna utvecklar tidigt proteinuri och de visar oftast symtom på kronisk njursvikt redan innan två års ålder. Proteinuri är däremot inte karaktäristiskt för RD.

Det finns för närvarande ingen beskrivning av den histopatologiska bilden vid RD hos engelsk cockerspaniel, men en sådan är viktig för att diagnostiken ska bli korrekt och för att kontrollprogrammet ska kunna fungera optimalt. Syftet med den här studien var att beskriva de typiska histopatologiska förändringarna samt den kliniska bilden vid RD hos denna ras. Studien baserades på histologiska arkivpreparat av njurvävnad från 21 cockerspaniels som tidigare fått diagnosen RD alternativt juvenil progressiv nefropati (PNP) under perioden 1987-2007. Uppsatta kriterier för att hunden skulle inkluderas i studien var, ålder <2 år samt tydliga histopatologiska tecken på RD och 14 hundar uppfyllde dessa kriterier. Dessa hundar användes för att beskriva den typiska histopatologiska bilden med hjälp av ljusmikroskopi. Den kliniska och den makroskopiska bilden beskrevs utifrån uppgifter i hundarnas remisser. Av de uteslutna hundarna uppvisade tre, samtliga <2 år, tecken på glomerulonefrit, vilket gav misstanke om HN. Den histopatologiska bilden vid HN är dock ospecifik och diagnosen måste verifieras med elektronmikroskopi, vilket inte var möjligt att utföra på det befintliga materialet.

De 14 utvalda hundarna uppvisade alla kliniska symtom på kronisk njursvikt i form av polyuri/polydipsi, kräkningar, avmagring, azotemi och anemi. Den makroskopiska bilden kännetecknades av att njurarna var små och oregelbundna.

De vanligaste primära histopatologiska förändringarna var fetala glomeruli (79%) och tubulär dysplasi av adenomatoid typ (57%). Persisterande mesenkym och persisterande primitiva gångstrukturer förekom hos 29% respektive 14% av hundarna. Persisterande mesenkym förekom alltid tillsammans med någon av de övriga förändringarna, medan både fetala glomeruli, tubulär dysplasi och primitiva gångstrukturer förekom både enskilt eller tillsammans med andra förändringar. Fetala tubuli och dysontogen metaplasia sågs inte hos någon av hundarna. Fetala glomeruli och tubulär dysplasi är de vanligaste förändringarna vid RD även hos andra raser, och den histopatologiska bilden hos cockerspaniel liknar mest den hos flatcoated retriever.

Studiens slutsats blir att de viktigaste histopatologiska kriterierna för RD hos engelsk cockerspaniel är förekomst fetala glomeruli och tubulär dysplasi av adenomatoid typ. Persisterande mesenkym och persisterande primitiva gångstrukturer är av mindre betydelse för diagnostik av RD hos cockerspaniel, men deras förekomst tillsammans med andra primära förändringar styrker ytterligare den histopatologiska diagnosen. Enbart förekomst av fetala glomeruli vid samtidiga tecken på glomerulonefrit är inte diagnostiskt för RD och HN bör istället misstänkas.

SUMMARY

Renal dysplasi (RD) is a congenital chronic renal disease affecting young dogs. It is a rather common disease that occurs in a large number of dogs and in some breeds there is a familiar incidence or suspected hereditary background. Both the etiology and pathogenesis are still unknown, but a theory about the cause of RD is that the two components that form the kidney, the ureteric bud and the metanephrogenic blastema, don't interact normally in the embryo. Kidneys affected by RD contain fetal (immature) structures that are inappropriate for the state of development/age of the dog and abnormal structures caused by an abnormal differentiation. Affected dogs usually are under <2 years old and show clinical signs of chronic renal failure. There is no treatment, but dogs with RD usually die or are put to death after that signs have developed. Diagnosis is made by histopathology and the primary changes that may be seen are fetal glomeruli / tubuli, atypical tubular epithelium, persistent mesenchyme, persistent metanephric ducts and dysontogenic metaplasia.

In Sweden there is a control program with central registration at SKK (Swedish Kennel Club) of all diagnosed cases of RD within the breed English cocker spaniel. In addition to RD another congenital renal disease, hereditary nephropathy (HN), has been recognized in the English cocker spaniel. Like RD, HN affects young dogs. In contrast to RD, it has been shown that HN is caused of a mutation in the gene COL4A4, which confers a defect in collagen IV, an essential component of glomerular basement membranes (GBM). The mode of inheritance of the mutation is autosomal recessive. The defective collagen provides a multilaminar, longitudinal division of the GBM, leading to protein leakage in the glomeruli. Affected dogs develop proteinuria at an early stage and usually show signs of chronic renal failure before 2 years of age. In contrast, proteinuria is not typical of RD.

Currently, there is no description of the histopathological picture of RD in the English cocker spaniel, but such a description is important for accurate diagnosis and for the control program to function properly. The purpose of this study was to describe the typical histopathological changes and the clinical picture of RD in the English cocker spaniel.

The study was based on histological sections from archival kidney tissue from 21 English cocker spaniels that had been diagnosed with RD or juvenile progressive nephropathy (PNP) during the period 1987-2007. Set criteria for the dog that would be included in the study were, age <2 years and typical histopathological signs of RD and 14 dogs fulfilled these criteria. These dogs were used to describe the typical histopathological picture using light microscope. The clinical signs and macroscopic picture were described based on information from the dogs' referrals. Three of the excluded dogs, all <2 years, showed signs of glomerulonephritis, which gave a suspicion of HN. The histopathological picture in HN, however, is non-specific and the diagnosis must be verified with electron microscopy, which was not possible to perform on the existing material

The 14 selected dogs showed clinical signs typical of chronic renal failure, the most common signs being polyuria / polydipsia, vomiting, azotemia and anemia. The macroscopic picture characterized by small and irregular kidneys. The most common primary histopathological changes were fetal glomeruli (79%) and atypical tubular epithelium of adenomatoid type (57%). Persistent mesenchyme and persistent metanephric ducts were present in, 29% and 14% of the dogs, respectively. Persistent mesenchyme was always accompanied by any one of the other changes, whereas fetal glomeruli, atypical tubular epithelium and persistent metanephric ducts were present both as single entities and together with other changes. Fetal tubules and dysontogenic metaplasia were not seen in any of the dogs. Fetal glomeruli and atypical tubular epithelium are the most common changes of RD in other breeds and the histopathological picture of the English cocker spaniel is most similar to the one seen in Flatcoated Retriever.

The final conclusions of this study are that the main histopathological criteria for RD within the English cocker spaniel are the presence of fetal glomeruli and atypical tubular epithelium of the adenomatoid type. Persistent mesenchyme and persistent metanephric ducts are of less importance for the diagnosis of RD in the English cocker spaniel, but their presence together with other primary changes further evidencing the histopathological diagnosis.

INLEDNING

Kroniska njursjukdomar är relativt vanligt förekommande hos hund och det är framförallt hos den gamla hunden som vi ser dem (Hoppe 1990). Renal dysplasi (RD), som primärt är en utvecklingsrubbnings, kan ge upphov till en progressiv njursjukdom hos den unga hunden som då utvecklar en kronisk njursvikt. Oftast är sjukdomen medfödd, men både etiologi och patogenes för RD är idag okända (Lees 2007). Sjukdomen har dödlig utgång för de individer som utvecklar symptom på njursvikt (McGavin, Carlton & Zachary 2001).

Renal dysplasi är relativt vanligt förekommande hos inavlade hundraser och finns dokumenterad hos många raser (Lees 2007). I Sverige har sjukdomen tidigare kallats juvenil progressiv nefropati (PNP), och här diagnostiserades under åren 1974-2000 totalt 546 fall av PNP eller RD inom 76 olika raser (Hoppe & Karlstam 2000). Hos engelsk cockerspaniel finns det ca 22 dokumenterade fall av sjukdomen under tidsperioden 1981-2007 (Cocker Spaniel klubben 2008). Hos flera raser har sjukdomen en familjär utbredning och hos t. ex. shih tzu finns det tydliga indikationer på att sjukdomen nedärvs autosomt recessivt (Hoppe & Karlstam 2000, Hoppe *et al.* 1990). Med anledning av detta finns det idag hos Svenska kennelklubben (SKK) kontrollprogram för RD inom 12 olika raser, däribland engelsk cockerspaniel (SKK 2008). Den definitiva diagnosen på RD ställs via histopatologisk undersökning av njurvävnad (Picut & Lewis 1987) och för att ett kontrollprogram ska fungera väl är det av största vikt att sjukdomen diagnostiseras korrekt.

Renal dysplasi definieras som en oorganiserad utveckling av njurvävnaden till följd av en onormal differentiering (Maxie & Newman 2007) och sjukdomen karaktäriseras av såväl kvarvarande fetala strukturer som dysplastiska strukturer i njurvävnaden. Det har i tidigare studier visats att histopatologin vid RD varierar mellan olika hundraser (Hoppe *et al.* 1990, Hoppe & Karlstam 2000, Wiholm Zander 2003), men någon beskrivning av den typiska histopatologiska bilden vid RD hos engelsk cockerspaniel i Sverige finns inte idag. De histopatologiska kriterierna för diagnos av medfödda kroniska njursjukdomar hos hund har förändrats allteftersom kunskapen om dessa sjukdomar har ökat (Maxie & Newman 2007). Redan på 1930-talet noterades de första fallen av renal hypoplasi hos hund (Krook 1957). Under 1940-talet diagnostiserades sjukdomen hos engelsk cockerspaniel som renal cortical hypoplasi (njurbarkshypoplasi) karakteriserad av ett minskat antal glomeruli, skleros, fibros och förkalkningar (Krook 1957).

Hos engelsk cockerspaniel finns det även en annan kronisk njursjukdom som kallas för hereditär nefropati (HN), vilken precis som RD är en progressiv sjukdom som ger upphov till kronisk njursvikt hos den unga hunden. Hereditär nefropati orsakas av en mutation i genen COL4A4 och sjukdomen nedärvs autosomt recessivt (Davidsson *et al.* 2007). Kliniskt utmärker sig HN, till skillnad från RD, av proteinuri. Histopatologiskt ses vid HN primära tecken på glomerulonefrit (Lees 1998a), men fetala strukturer kan förekomma (Steward & Macdougall 1984). Förändringarna är dock ospecifika och den definitiva diagnosen ställs med hjälp av elektronmikroskopi eller via ett nyligen utvecklat DNA-test (Lees 2007).

För att underlätta en korrekt differentiering mellan dessa båda sjukdomar och minska risken för feldiagnosticering, är det av stor vikt att RD hos cockerspaniel karaktäriseras histopatologiskt. Syftet med den här studien var att beskriva och klassificera de typiska histopatologiska förändringarna och den kliniska bilden vid RD hos engelsk cockerspaniel, samt att sätta upp kriterier för den histopatologiska diagnostiken av sjukdomen hos rasen.

LITTERATURÖVERSIKT

Njuren

Nefronet

Njurens funktionella enhet är nefronet, som är den struktur där blodet filtreras och primärurinen bildas. Primärurinen transporteras sedan från njurarna via uretärerna ner till urinblåsan. Nefronet består av en glomerulus, en Bowmans kapsel samt en tubulär del indelad i proximal tubulus, Henle´s slynga och distal tubulus (fig. 1).

Glomeruli är nefronets kärlnystan som består av kapillärer. Blodet kommer till glomeruli via den afferenta arteriolen och lämnar glomeruli via den efferenta arteriolen (Sjaastad, Hove & Sand 2003). Glomeruli omges av Bowmans kapsel som har två lager, det visceral lagret som består av podocyter som ligger tätt på kapillärernas endotel och ett parietalt lager som utgör själva kapseln (Junqueira & Carneiro 2003). Mellan de två lagren bildas det ett utrymme (urinary space) där primärurinen, som filtreras ut från kapillärerna, samlas upp (fig. 2) (Junqueira & Carneiro 2003).

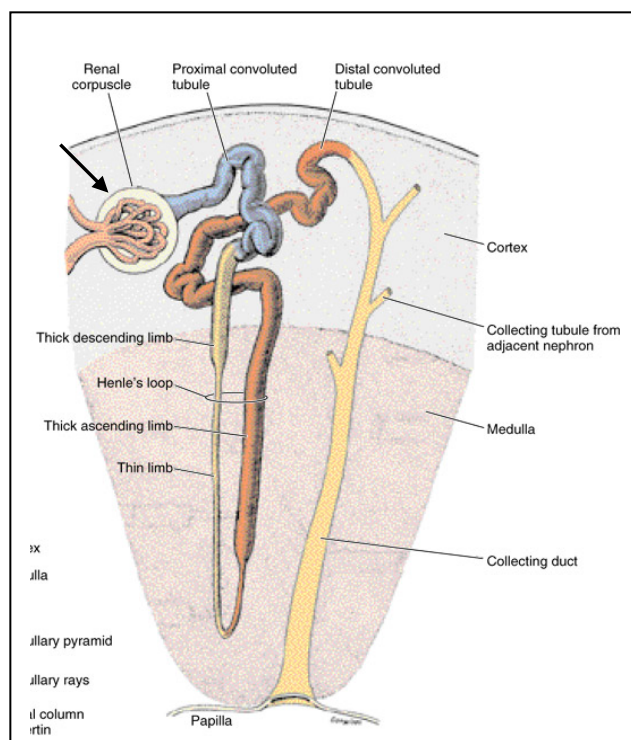


Fig 1. Nefronets uppbyggnad. Pilen pekar på en glomerulus (Junqueira & Carneiro 2003)

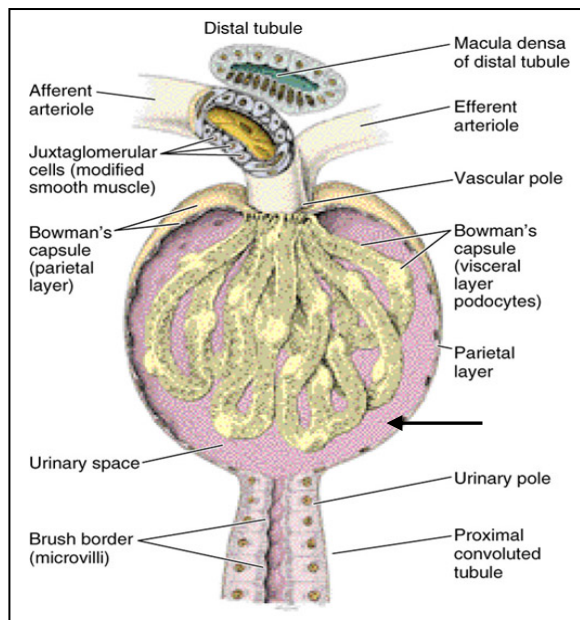


Fig 2. Bowmans kapsel. Pilen pekar på "urinary space" (Junqueira & Carneiro 2003).

Endotellagret i kapillärerna är fenestrerat, vilket gör att små partiklar från blodet kan gå ut till primärurinen. Mellan kapillärernas endotel och podocyterna finns det ett basalmembran (det glomerulära basalmembranet = GBM) som fungerar som ett filter mellan blodet och primärurinen (fig. 3). Basalmembranet bildas genom att endotelets och podocyternas basallamina smälter samman. Till största delen består GBM av ett nätverk av kollagen typ IV, laminin och proteoglykanen heparansulfat. Basalmembranets uppbyggnad gör att det fungerar som ett filter där partiklar större än 10nm i diameter inte kan passera och negativt laddade partiklar med en partikelstorlek större än albumin (69 kDa) passerar endast sparsamt (Junqueira & Carneiro 2003).

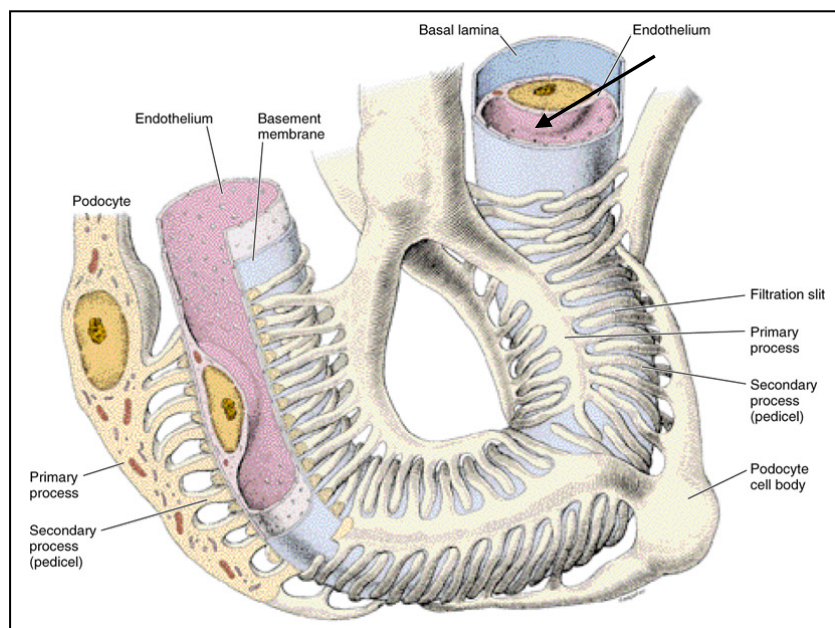


Fig 3. Närbild på en glomerulär kapillär, det glomerulära basalmembranet (GBM) samt podocyter med fotutskott i glomeruli. Pilen pekar på GBM (Junqueira & Carneiro 2003).

Kollagen typ IV finns i alla basalmembran i kroppen och till skillnad från de andra kollagentyperna bildar inte kollagen IV fibrer eller fibriller. Kollagen IV bildar istället ett nätverk som påminner om uppbyggnaden av ett hönsnät (Junqueira & Carneiro 2003). Kollagen IV byggs upp av sex olika peptidkedjor, s.k. α -kedjor, som kan kombineras på tre olika sätt och då bilda tre olika typer av trippelhelix. I GBM består kollagen IV av en trippelhelix som bildas av α -kedjorna 3, 4 och 5 (Davidsson *et al.* 2007).

När primärurinen samlats upp i Bowmans kapsel fortsätter den sin transport genom den tubulära delen av nefronet d.v.s. proximala tubuli, Henle's slynga och distala tubuli samt vidare ut i samlingsröret. Proximala tubuli ligger i njurens cortex och utlinjeras av ett enkelt kubiskt epitel med borstbräm. Henle's slynga, där vattenresorptionen sker, bildar ett U när den går ner i medulla för att sedan komma tillbaka upp i cortex igen. I Henle's slynga är epitelet också enkelt, saknar borstbräm och varierar lite i tjocklek från kubiskt till tunnare, mer likt plattepitel. Distala tubuli utlinjeras av ett enkelt kubiskt epitel som saknar borstbräm och övergår i samlingsrör som går ihop med varandra och bildar tjockare samlingsrör (se fig. 1). Samlingsrören går sedan samman i papillargångar, vilka så småningom mynnar i njurbäckenet (Junqueira & Carneiro 2003).

Embryologi

Hos alla däggdjur sker utvecklingen av njuren i fosterstadiet på samma sätt, även om det tar olika lång tid för olika strukturer att bildas hos olika djurslag (Dyce, Sack & Wensing 2002).

Den allra första strukturen med njurfunktion som bildas hos embryot kallas för pronefros och anläggs i embryots halsregion. Pronefros består av många små blindgångar som börjar fritt och som sedan går ihop till en enda stor gång, den pronefriska gången, som går i kaudal riktning och tömmer sig i embryots kloak. Pronefros tillbakabildas efterhand och istället bildas mesonefros kaudalt om pronefros. Mesonefros är en stor struktur som har många fler små blindgångar än pronefros. Blindgångarna utvecklar en invagination i vilken ett kärlnystan bildas och från detta kärlnystan sker sedan en viss filtration av vätska som tas upp av blindgången. Alla blindgångarna i mesonefros går ihop och mynnar i den pronefriska gången som nu byter namn och kallas för den mesonefriska gången. Även mesonefros kommer att tillbakabildas och istället bildas metanefros (den permanenta njuren) som är mycket mindre än mesonefros. Delar av mesonefros inklusive den mesonefriska gången blir dock kvar hos handjuren där de utgör en del av reproduktionsorganen (Dyce, Sack & Wensing 2002).

Metanefros bildas av två olika delar: den metanefriska divertikeln (ureteric bud) och det metanefrogena blastemet. Metanefriska divertikeln är en utväxt av den mesonefriska gången, strax framför kloaken, medan blastemet bildas från den nefrogena strängen (nephrogenic cord) och består av intermediärt mesoderm. Metanefriska divertikeln växer in i blastemet och bildar så småningom uretär, njurbäcken, papillargångar och samlingsrör. De yttre delarna av blastemet kommer att bilda njurkapsel och njurens interstitium medan de inre delarna bildar tubuli som sedan formas till nefron. Varje liten tubulus smälter samman med ett samlingsrör så att det bildas en kontinuerlig passage. I änden av varje tubulus sker

det en invagination och i denna växer det in kärlnystan som kommer från en gren av aorta och på detta sätt bildas glomeruli (Dyce, Sack & Wensing 2002).

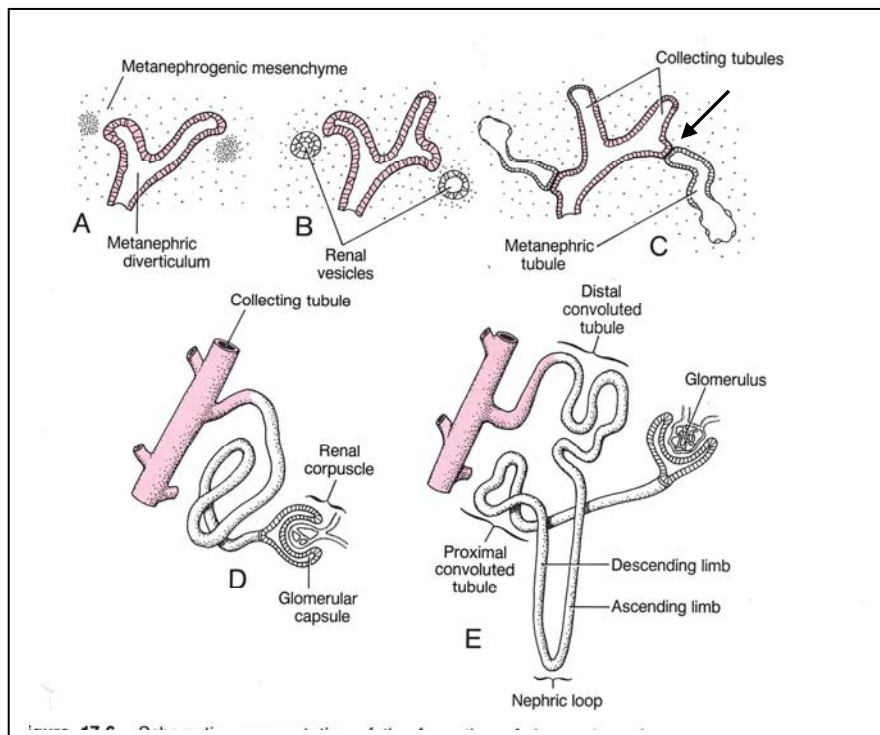


Fig 4. Bild på hur metanefriska divertikeln smälter samman med metanefrogena blastemet hos embryot. Pilen pekar på stället där sammansmältningen sker (Noden & de Lahunta 1985).

Definition av juvenila nefropatier

Juvenil progressiv nefropati är en bred term som omfattar kroniska, progressiva njursjukdomar hos unga djur. Dessa kan vara primärt icke-inflammatoriska, degenerativa eller bero på en utvecklingsrubbing. Dessa njursjukdomar är relativt vanliga i inavlade linjer av många hundraser (Maxie & Newman 2007). Sjukdomar som går in under begreppet juvenil progressiv nefropati är t. ex. glomerulopati, glomerulonefropati, tubulointerstitiell nefropati och RD (Maxie & Newman 2007). *Familjär nefropati* är en mer specifik term som används om njursjukdomar av denna typ som har en familjär utbredning inom en hundras. Exempel på en familjär nefropati är RD hos lhasa apso och alaskan malmute (Lees 2007). *Hereditär nefropati* är en ännu mer specifik term som man endast använder till nefropatier som man kunnat bevisa är ärftliga t. ex. HN hos engelsk cockerspaniel (Maxie & Newman 2007).

Renal dysplasi

Bakgrund

Renal dysplasi är en kronisk njursjukdom som drabbar unga hundar och som leder till döden när individen utvecklat symtom (Maxie & Newman 2007). Definitionen för RD är att njurarna innehåller onormala strukturer orsakade av en onormal differentiering (McGavin, Carlton & Zachary 2001), samt att man ser strukturer i njurarna som inte stämmer överens med individens utveckling/ålder (Picut & Lewis 1987). Dysplasien kan vara antingen bi- eller unilateral och omfatta antingen hela njuren eller bara delar av den (McGavin, Carlton & Zachary 2001).

Renal dysplasi är vanligtvis en medfödd defekt, men kan också uppstå till följd av neonatala infektioner, som t. ex. herpesvirus, eller som följd av att hunden under fosterstadiet eller neonatalperioden utsätts för teratogena ämnen (Greco 2001). Att infektioner och skadliga ämnen kan ge en felaktig utveckling av njuren även efter födseln beror på att utvecklingen av nefron fortsätter flera veckor efter födseln hos hund. Hos den nyfödda valpen är njurarna alltså normalt omogna, vilket gör att de har en lägre glomerulär filtration och ett mindre blodflöde till njuren än vad den vuxna hunden har. Detta gör att njuren hos den nyfödda valpen är känsligare för påverkan utifrån än hos den vuxna hunden. (Maxie & Newman 2003, Greco 2001).

I dagsläget har man inte hittat någon definitiv orsak till varför och hur den medfödda formen av RD utvecklas (Lees 2007). En teori är att den metanefriska divertikeln (uretric bud) och det metanefrogena blastemet (metanephric blastema) inte har kunnat interagera normalt i embryot. Detta skulle då kunna resultera i en onormal differentiering av metanefros med bildning av strukturer som inte följer en normal nefrogenes (Picut & Lewis 1987). En annan teori är att obstruktion av urinvägarna hos fostret skulle kunna orsaka cystbildning i den metanefriska divertikeln vilket i sin tur skulle kunna leda till RD (Nagata, Shibata & Shu 2002).

Hos människa är det vid RD vanligt med andra samtidiga abnormaliteter i urogenitalorganen, men detta är ovanligt hos hund (Picut & Lewis 1987). I en studie gjord av Hoppe & Karlstam (2000) anges dock en ökad frekvens av abnormaliteter, såsom ektopisk uretär, renal aplasi samt renal hypoplasia hos hundar med RD. Förekomst av unilateral renal aplasi hos hundar med RD är dessutom något som finns dokumenterat i flera andra studier (Morita *et al.* 2005, Autran de Morais, DiBartola & Chew 1996).

Kliniska symtom

Debutåldern för utvecklingen av symtom vid RD varierar från ett par veckor till flera år, men vanligast är att djuren insjuknar någon gång mellan 4 och 18 månaders ålder (Maxie & Newman 2007). Anamnesen vid RD är oftast från ett par veckor till ett par månader lång och innehåller framförallt symtom som apati och anorexi. Hundarna blir gradvis sämre, trots insatt understödande behandling (Felkai *et al.* 1997).

Vanliga symtom är polyuri/polydipsi, nedsatt allmäntillstånd (AT), kräkningar samt urinvägsinfektioner (Hoppe & Karlstam 2000). Vid ankomst till kliniken ses ofta symtom på kronisk njursvikt d.v.s. dehydrering, bleka slemhinnor, uremiska

ulcerationer i munhålan samt uremisk lukt därifrån (Felkai *et al.* 1997). Hos shih tzu har man sett att det finns två olika kliniska former av RD. I den ena formen visar unga hundar inte några kliniska symtom, men den hematologiska bilden tyder ändå på en kronisk njursvikt. Dessa hundar lever oftast i flera år innan de så småningom utvecklar symtom på azotemi och anemi. Vid den andra formen handlar det om unga hundar med en kort anamnes av polyuri/polydipsi och kräkningar, vilka sedan dör/avlivas bara ett par dagar efter symtomdebut. Vid båda formerna ser man samma histologiska bild med fetala glomeruli, fibros och inflammation (Hoppe *et al.* 1990).

Patologi

Den makroskopiska bilden vid RD karaktäriseras av att njurarna är små och skruppna, färgen är ljus till vit och konsistensen är fast. Ytan på njuren kan ha ett granulärt utseende (McGavin, Carlton & Zachary 2001) och kapseln sitter ofta adherent till njurvävnaden (Picut & Lewis 1987). Barken är tunn och innehåller linjära ärr av fibros, medan mären är mer diffust fibrotisk. Små cystor (1-2 m.m. i diameter) ses ofta i både cortex och medulla (McGavin, Carlton & Zachary 2001).

Mikroskopiskt ses vid RD dels primära förändringar i form av kvarstående fetala strukturer och dysplastiska strukturer, dels sekundära förändringar. De sekundära förändringarna kan vara kompensatoriska, inflammatoriska eller degenerativa och de är ofta omfattande (Picut & Lewis 1987).

Primära förändringar vid RD är:

- fetala glomeruli och/eller tubuli
- tubulär dysplasi
- persisterande mesenkym
- persisterande primitiva (metanefriska) gångstrukturer
- dysontogen metaplasi (framförallt ben- och broskvävnad)

(Picut & Lewis 1987)

I en studie där 45 hundar av olika raser med RD undersöktes fann man att de vanligaste primära förändringarna var fetala glomeruli/tubuli och persisterande mesenkym, vilka förekom hos 40 respektive 25 av hundarna. Atypiskt tubulärt epitel och persisterande metanefriska gångstrukturer var mer ovanliga och sågs bara hos sju respektive sex av hundarna. Den tubulära dysplasin var av adenomatoid typ hos sex av de sju hundarna, medan den sjunde hunden hade flerradigt epitel i en del tubuli. Allra ovanligast var dysontogen metaplasi i form av ben- och broskvävnad, vilket bara sågs hos två hundar. (Picut & Lewis 1987)

Flera andra studier gjorda på olika hundraser med RD stödjer den histologiska bilden som Picut & Lewis (1987) beskrev i sin studie. I en studie där 45 shih tzu med RD utvärderades noterades fetala glomeruli hos 38, och tubulär dysplasi av adenomatoid typ hos 11 hundar, medan bara två hundar uppvisade dysontogen metaplasi i form av benvävnad (Hoppe *et al.* 1990).

Hos 12 golden retriever som utvärderades i en retrospektiv studie var det dock inte fetala glomeruli utan tubulär dysplasi av adenomatoid typ som var det vanligaste fyndet (Autran de Moraes, DiBartola & Chew 1996). I en jämförande

studie av den histologiska bilden hos flatcoated retriever och tibetansk spaniel med RD var fetala glomeruli och tubulär dysplasi de vanligaste fynden, men tubulär dysplasi var mer än dubbelt så vanligt hos flatcoated retriever som hos tibetansk spaniel (Wiholm Zander 2003).

Sekundära förändringar som förekommer hos de flesta hundar med RD är degenerativa och inflammatoriska skador såsom interstitiell fibros, infiltration av inflammatoriska celler, dystrofisk mineralisering, cystiska glomeruli, retentionscystor och glomerulär lipidosis (Picut & Lewis 1987). En samtidig pyelonefrit är också ett relativt vanligt fynd hos hundar med RD (Picut & Lewis 1987). Retentionscystor, cystiska glomeruli och dilaterade tubuli uppkommer troligen av att det intrarenala trycket ökar vid interstitiell fibros. Kompensatoriska förändringar som t. ex. hyperplasi och hypertrofi av glomeruli och tubuli är också vanligt förekommande hos hundar med RD (Picut & Lewis 1987).

Diagnostik

Den hematologiska bilden vid RD visar samma bild som vid kronisk njursvikt av annan etiologi, d.v.s. en icke-regenerativ anemi, höga kreatinin- och ureavärden (azotemi), hyperfosfatemi, hypokalemi samt en metabolisk acidosis (Felkai *et al.* 1997). I urinprov ser man framförallt hypostenuri eller isostenuri och i vissa fall proteinuri (Felkai *et al.* 1997 och Hoppe *et al.* 1990).

Ultraljud kan användas för att tillsammans med de kliniska symtomen samt provsvaren från blodprov och urinprov stödja misstanken om RD. Ultraljud är en användbar icke-invasiv diagnostisk metod. I en undersökning utförd på åtta cockerspaniels med RD (där diagnosen verifierades med hjälp av histologi efter obduktion) sågs med ultraljud en minskning av njurarnas volym med 40-50 % jämfört med normala njurar (Felkai *et al.* 1997). Förutom att njurarna är mindre än normalt har de dessutom en oregelbunden form, är hyperekoiska och har en dålig definition mellan cortex och medulla (Felkai *et al.* 1997). Samma ultraljudsbild ses även vid andra typer av kroniska inflammationer i njurarna t. ex. nefrit och glomerulonefrit (Lees 2007).

För att kunna ställa en definitiv diagnos måste ultraljudet kompletteras med biopsi för histopatologisk undersökning där man letar efter primära förändringar karaktäristiska för RD (Felkai *et al.* 1997). Det finns risk för att den perkutana ultraljudsguidade biopsin är för liten och att man råkar ta den från ett område med normal njurvävnad. Därför kan det vara bättre att ta en större biopsi från ett förändrat område under en buköppning då man samtidigt inspekterar båda njurarna (Hoppe 1990).

Behandling

Det finns ingen behandling för RD utan utgången av sjukdomen är alltid dödlig när hundarna väl visat symtom. Däremot kan man precis som vid andra former av kronisk njursvikt behandla hundarna symptomatiskt, med t. ex. proteinfattigt foder och aluminiumhydroxidgel, för att förlänga deras livstid (Polzin, Osborne & Ross 2005 och Miyamoto *et al.* 1997). Att behandla unga hundar med proteinfattigt foder är dock inte att rekommendera eftersom tillväxten då störs, och därför kan det vara bättre att avliva dessa hundar (Hoppe 1990).

Hereditär nefropati

Bakgrund

Hereditär nefropati (HN) hos cockerspaniel är en ärftlig progressiv njursjukdom som drabbar unga hundar av båda könen och som alltid leder till döden när hundarna utvecklat symtom (Lees *et al.* 1997). Sjukdomen upptäcktes redan för 50 år sedan och beskrevs först som en hypoplasi av njurbarken (Krook 1957). Hereditär nefropati var den första ärftliga njursjukdomen hos hund som beskrevs och idag har man dessutom lyckats identifiera den bakomliggande gendefekten (Davidsson *et al.* 2007). Sjukdomen kallas i viss litteratur för familjär nefropati, vilket egentligen bara är ett äldre namn på sjukdomen som användes innan man hade fastställt att den är ärftlig (Lees *et al.* 1998b).

Hereditär nefropati finns även hos människa, där den kallas för Alport's syndrom, samt hos hundraserna samojed och bullterrier. Hos människa och samojed nedärvs sjukdomen via X-kromosomen (Lees *et al.* 1997) medan HN hos bullterrier nedärvs autosomt dominant (Hood *et al.* 1990). Hereditär nefropati hos cockerspaniel nedärvs istället autosomt recessivt (Lees *et al.* 1998a). Hos människor med Alport's syndrom kan man även se både en autosomt recessiv och en autosomt dominant nedärvning, men dessa former är mycket ovanligare än den könsbundna formen (Kashtan & Michael 1993).

Anledningen till att HN utvecklas är att det hos dessa individer finns en defekt i kollagen typ IV som finns i det glomerulära basalmembranet (GBM). Varje kollagenmonomer i GBM består av en trippelhelix av polypeptider s.k α -kedjor. Trippelhelixen som utgör kollagen IV består av sex olika typer av α -kedjor (Lees *et al.* 1997). Genen som kodar för α -kedja nummer fem i kollagen IV sitter på X-kromosomen hos hund och hos samojeder med HN har det skett en mutation i den här genen (Lees *et al.* 1997).

Engelsk cockerspaniel med HN saknar istället α -kedja fyra i kollagen IV, vilket är samma α -kedja som människor med den typ av Alport's syndrom som nedärvs autosomt recessivt saknar (Lees *et al.* 1998a). Hos människa sitter genen som kodar för α -kedja fyra på kromosom två och mutationer i denna gen har setts hos människor med Alport's syndrom (Kashtan & Michael 1993). Hos engelsk cockerspaniel sitter genen (COL4A4) som kodar för α -kedja fyra istället på kromosom 25 (Davidsson *et al.* 2007). Genen COL4A4 innehåller 47 exoner och HN hos cockerspaniel orsakas av en nonsensmutation i exon tre. Mutationen består i att en adeninemolekyl byts ut mot en tyaminmolekyl vid baspar 115, vilket gör att gensekvensen som skulle koda för en lysinmolekyl istället kodar för en stoppkodon (Davidsson *et al.* 2007). Mutationen orsakar därför en för tidig stoppkodon vilket gör att peptidkedjan (α -kedja fyra) som bildas efter den här genen blir "avhuggen" och kan inte binda in till α -kedjorna tre och fem och då inte heller bilda en stabil trippelhelix i kollagenet (Davidsson *et al.* 2007). Defekten i kollagen IV i GBM gör att basalmembranet inte hålls ihop och protein kan därför läcka ut från glomeruli (Lees *et al.* 1998b).

Symtom

Vid HN ser man vanligtvis symtom vid 6-24 månaders ålder (Lees *et al.* 1998a). Hundarna föds med normala njurar, men p.g.a. det defekta kollagenet i GBM försämras njurarnas funktion/filtration redan i ung ålder. Proteinuri utvecklas alltid innan hundarna har fyllt ett år, men sedan kan det ta mellan sex månader och två år innan de utvecklar kliniska symtom. Skadorna i njuren gör att hundarna så småningom utvecklar en kronisk njursvikt (Lees *et al.* 1998b). Precis som vid RD uppvisar hundar med HN symtom som polyuri/polydipsi, avmagring, matvägran och kräkningar (Lees *et al.* 1997).

Patologi

Makroskopiskt är njurarna mindre än normalt, men minskningen i storlek är inte alltid lika på båda njurarna. Njurkapseln sitter adherent till den underliggande vävnaden och njurens yta är granulerad. Njurarna är fastare i konsistensen än normalt och barken är tunnare (Lees *et al.* 1997).

De histologiska förändringarna i cortex har ofta ett stråkformigt mönster till att börja med för att sedan bli diffust utbredda. I början av sjukdomen ses en diffus glomerulär skada med mesangial förtjockning och glomerulär fibros, förändringarna övergår sedan i en glomerulär sklerotisering och en mer utbredd glomerulär fibros (Maxie & Newman 2007, Lees *et al.* 1998a). Ibland kan glomeruli växa ihop med Bowmans kapsel, antingen på enstaka ställen eller runt om hela glomeruli (Lees *et al.* 1998a). I interstitiet ses ofta en stråkformad fibros samt en kraftig infiltration av lymfocytära celler. Tubuli är vanligtvis dilaterade med proteinhaltigt innehåll (Lees *et al.* 1997).

Lees *et al.* (1998a) såg i en studie av 17 hundar att utseendet i ljusmikroskopet varierade med sjukdomsstadiet och att GBM hos vissa hundar med HN får delvis ett "malätet" utseende, vilket syns vid infärgning med PAS eller GMS. De glomerulära skadorna försämras under sjukdomsförloppet och glomeruli blir till slut helt sklerotiserade (Lees *et al.* 1998b). Sekundära förändringar som ses vid HN är atrofierade glomeruli, cystiska glomeruli samt förkalkningar (Lees 1998a).

De histologiska förändringar vid glomerulonefrit av annan orsak är framförallt en ökad celltäthet i glomeruli som orsakas av att endotel-, epitel- och mesangiala celler i glomeruli prolifererar. I det akuta stadiet får glomeruli ett "svullet" utseende (Maxie & Newman 2007). I drabbade glomeruli kan GBM och/eller mesangiet vara förtjockat och det sker ofta en adhesion mellan Bowmans kapsel och glomeruli. Andra förändringar är hypertrofi/hyperplasi av det parietala lagret av Bowmans kapsel samt dilaterade tubuli med proteinhaltigt innehåll (McGavin, Carlton & Zachary 2001). När sjukdomen bli mer kronisk sklerotiserar glomeruli och fibros ses i omgivande vävnad (Maxie & Newman 2007).

I elektronmikroskop ses vid HN en kraftig förtjockning GBM med multilaminär, longitudinell isärsprängning. Dessa förändringar blir värre och mer framträdande längre fram i sjukdomsförloppet (Lees *et al.* 1998a). Andra förändringar som ses är fusioner av podocyternas fotutskott samt elektrontäta depositioner i GBM (Lees *et al.* 1997).

Diagnostik

Den hematologiska bilden hos hundar med HN karaktäriseras av anemi, azotemi (förhöjda urea och kreatinin värden) samt hyperfosfatemi (Lees *et al.* 1997). I urinprovet ser man framförallt proteinuri (som kan ses långt innan kliniska symtom utvecklas) samt en låg densitet (som bli lägre längre fram i sjukdomsförloppet). Hematuri och glukosuri ses bara i vissa fall (Lees *et al.* 1998a). För att ställa en definitiv diagnos måste preparat från njuren undersökas i elektronmikroskop och den typiska förtjockningen och isärsprängningen av GBM påvisas (Lees *et al.* 1997).

Det finns också ett nyligen utvecklat DNA-test för HN som kan användas som komplement i diagnostiken. Testet, som utförs på blodprov, har utvecklats av företaget OptiGen i USA och där utförs också analysen. Resultatet anges som att hunden är fri, heterozygot eller homozygot för den mutation som ger upphov till HN (OptiGen 2007).

MATERIAL OCH METODER

Studien baserades på histologiska arkivpreparat av njurvävnad från 21 cockerspaniels som fått diagnosen RD eller PNP vid BioVet AB, Stockholm samt vid Avdelningen för patologi, farmakologi och toxikologi, Institutionen för BVF, SLU. Preparaten härrörde från fall inkomna mellan åren 1987 och 2007.

De histologiska preparaten var färgade med hematoxylin och eosin (HE) och periodic acid Schiff Alcian blue (PAS-AB). I vissa fall användes även periodic acid silver methenamnin (PAS-M) och Kongorött. PAS-AB och PAS-M användes för att lättare kunna studera glomerulära förändringar och den förra även för att lättare kunna identifiera persisterande mesenkym. Kongorött användes för att påvisa amyloid där sådan misstanke fanns. Preparaten utvärderades i ljusmikroskop. Från remisserna sammanställdes uppgifter om kön, debutålder och, där sådana fanns angivna, makroskopiska fynd samt uppgifter om kliniska symtom.

Studiens syfte var att beskriva typiska histologiska förändringar vid RD hos cockerspaniel och därför sattes följande kriterier upp för de hundar som skulle vara med i studien. Hundarna skulle vara <2 år gamla och uppvisa minst en av de primära förändringar som enligt Picut & Lewis (1987) är karaktäristiska för sjukdomen. Åldersgränsen valdes för att RD i litteraturen klassas som en juvenil progressiv nefropati (Maxie & Newman 2007) och med stigande ålder ökar risken för att den histopatologiska bilden kompliceras, dels av att de primära förändringarna överskuggas av sekundära förändringar, dels av att andra njursjukdomar kan ha tillstött.

En initial histopatologisk utvärdering samt genomgång av remisser visade att totalt 14 av de 21 hundarna uppfyllde uppsatta kriterier och dessa användes för vidare undersökningar. Resterande sju hundar uteslöts ur själva studien, men utvärderades separat.

RESULTAT

Av de 14 utvalda hundarna var nio tikar och fem hanhundar. Åtta hundar var <1 år gamla (med en topp runt 4 månader) och sex hundar var 1-2 år gamla vid symtomdebut alternativt avlivning. För mer än hälften av hundarna i studien (n=8) var tiden mellan symtomdebut och avlivning <4 månader, och för fyra av dessa var tiden bara 1-3 veckor. Hos övriga hundar (n=6) fanns det ingen notering i remissen om hur lång tid som förflutit mellan symtomdebut och avlivning. För två hundar saknades uppgifter om kliniska symtom i remisserna. De vanligaste symtomen hos de övriga hundarna (n=12) var kräkningar (n=6) samt polyuri/polydipsi (n=5). Andra symtom som förekom hos mer än en hund var diarré, dålig aptit, slöhet och nedsatt allmäntillstånd. En av hundarna hade haft en dålig tillväxt under hela sin uppväxt och en annan uppvisat symtom på renal sekundär hyperparathyroidism i form av s.k. gummikäke d.v.s. ansvallda mjuka ben i ansiktet

Hematologisk analys hade gjorts på 13 hundar och samtliga av dessa hade azotemi (förhöjda urea och kreatininvärden). Fyra av hundarna uppvisade hematologiska och/eller kliniska tecken på anemi. I två av fallen hade man gjort en urinanalys och båda dessa hundar visade tecken på isostenuri (urindensitet mellan 1,008–1,012).

För de hundar som hade undersökts med ultraljud (n=3) noterades små, oregelbundna njurar med nedsatt skillnad i ekogenicitet mellan cortex och medulla. Tre av hundarna hade röntgats och hos dessa hade också små njurar noterats. Från sex av de 14 hundarna fanns beskrivningar av makroskopiska förändringar. Njurarna beskrevs som små och oregelbundna och hos en hund påvisades bara en njure. Andra fynd som gjordes var uremisk pneumonopati (n=1) och parathyroideahyperplasi (n=1). Det senare fyndet gjordes hos samma hund som uppvisat kliniska symtom på renal sekundär hyperparathyroidism.

Vid den histopatologiska undersökningen noterades tecken på RD i form av fetala glomeruli, tubulär dysplasi, persisterande mesenkym och primitiva (metanefriska) gångstrukturer. Den vanligaste förändringen var fetala glomeruli antingen enskilt eller tillsammans med övriga primära förändringar. Även tubulär dysplasi och primitiva gångstrukturer förekom enskilt utan tecken på andra primära förändringar hos några av hundarna (Tabell 1).

Tabell 1. Förekomst av primära histopatologiska förändringar hos de 14 hundarna med renal dysplasi

	Hundar		Fetala glomeruli	Tubulär dysplasi	Persisterande mesenkym	Primitiva gångstrukturer
	Antal	Andel (%)				
	3	21	X	-	-	-
	3	21	X	-	X	-
	1	7	X	X	-	X
	1	7	-	-	-	X
	1	7	X	X	X	-
	3	21	X	X	-	-
	1	7	-	X	-	-
Totalt	14		11	6	4	2
Frekvens (%)			79	43	29	14

Den tubulära dysplasin var av adenomatoid typ (fig. 6) och hos alla hundarna sågs förändringen enbart i medulla. Persisterande mesenkym (fig 9) förekom alltid tillsammans med fetala glomeruli (fig 8) och sågs framförallt i cortex eller i övergången mellan cortex och medulla. Persisterande primitiva gångstrukturer (fig 7) sågs hos två av hundarna och förekom framförallt i medulla. De primitiva gångstrukturerna utlinjerades av ett flerradigt högt cylinderepitel. Dysontogen metaplasi (ben- och broskvävnad) och fetala tubuli noterades inte hos någon hund i den här studien.

Hos alla hundarna var cortex tunnare än normalt och antalet glomeruli föreföll vara minskat i jämförelse med normal njurvävnad. Hos alla hundar fanns det även flera sekundära förändringar och i många fall var det de sekundära förändringarna som dominerade bilden. Hos tre hundar förelåg en samtidig pyelonefrit.

Förändringar som i den här studien tolkats som sekundära är:

- interstitiell fibros
- infiltration av inflammatoriska celler
- dilaterade tubuli (fig.10)
- förkalkningar
- cystiskt dilaterade glomeruli (fig. 11)
- hypertrofi av njurararteriolenas väggar
- hypertrofi och hyperplasi av glomeruli
- skleros av glomeruli

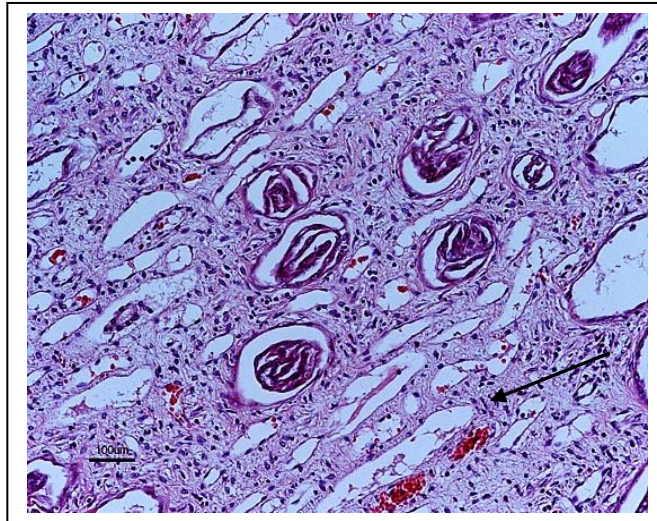


Fig. 6. Tubulär dysplasi av adenomatoid typ. HE-färgning 20x. Pilen pekar på typiskt förändrade tubuli.

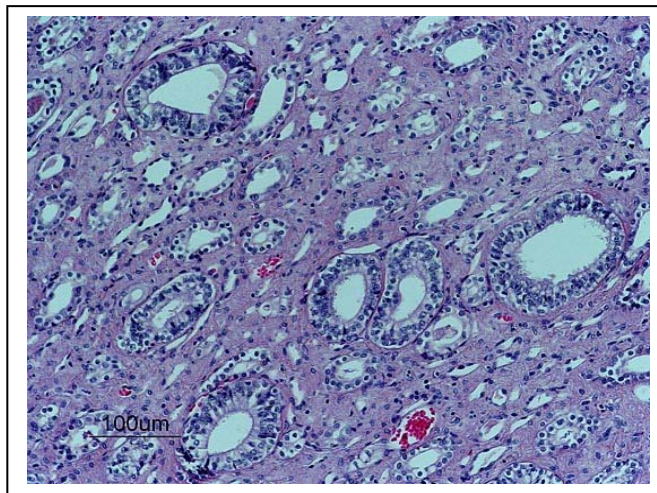


Fig. 7. Persisterande primitiv (metanefrisk) gångstruktur. HE-färgning 20x. Pilen pekar på en typisk primitiv gång med ett högt flerradigt cylinderepitel.

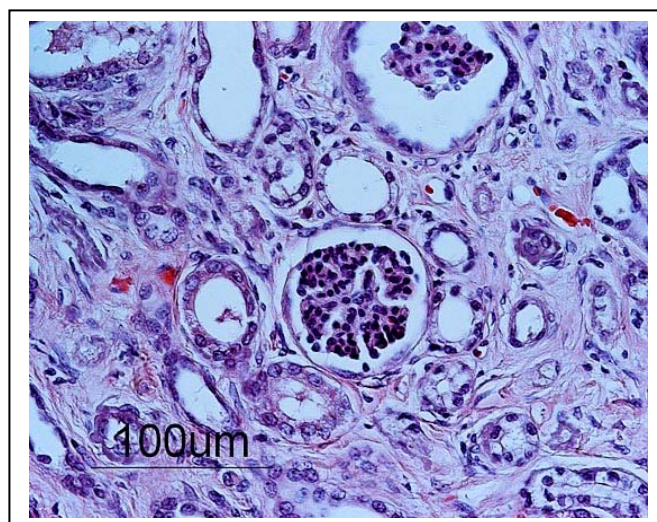


Fig. 8. Fetal glomerulus (mitt i bilden). Den är mindre och mer celltät än en normal, mogen glomerulus, och har många cellkärnor längs den perifera kanten. HE-färgning 40x.

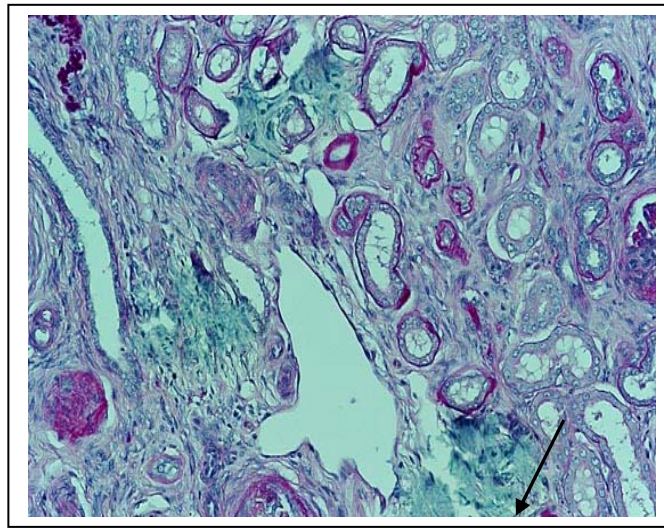


Fig. 9. Persisterande mesenkym (pil). PAS-AB färgning 20x.

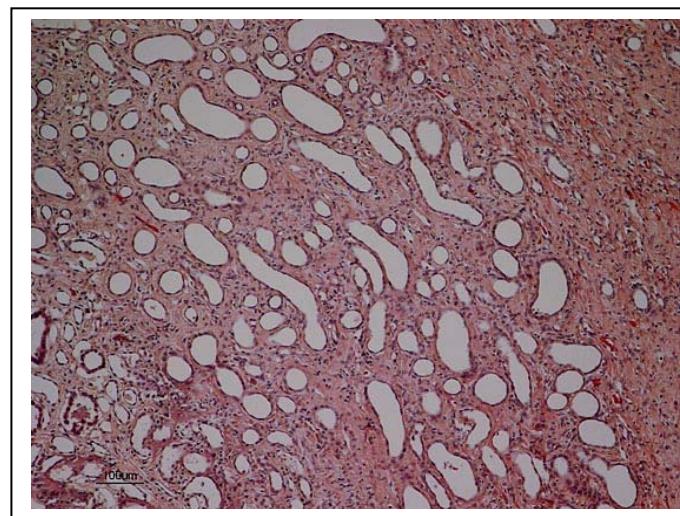


Fig. 10. Dilaterade tubuli i medulla. HE-färgning 10x.

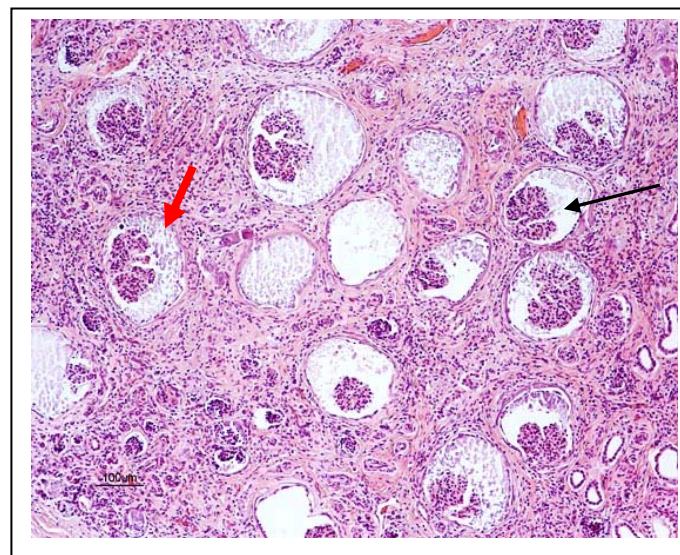


Fig. 11. Cystiskt dilaterade glomeruli i cortex, flera med förkalkningar i Bowmans kapsel. HE-färgning 10x. Typisk dilaterad glomeruli (svart pil), förkalkningar i Bowmans kapsel (röd pil).

Hos alla de 14 hundarna sågs måttlig till kraftig infiltration av inflammatoriska celler, interstitiell fibros samt dilaterade tubuli (fig 13). Den interstitiella fibrosen var stråkformig i cortex för att sedan bli mer generell och diffus i medulla. Förkalkningar sågs hos de flesta av hundarna (n=13) och de var i många fall kraftiga. Vanligast var diffust utspridda förkalkningar i interstitiet, men det förekom även förkalkningar i Bowmans kapsel, glomeruli samt tubuliepitelet hos vissa hundar.

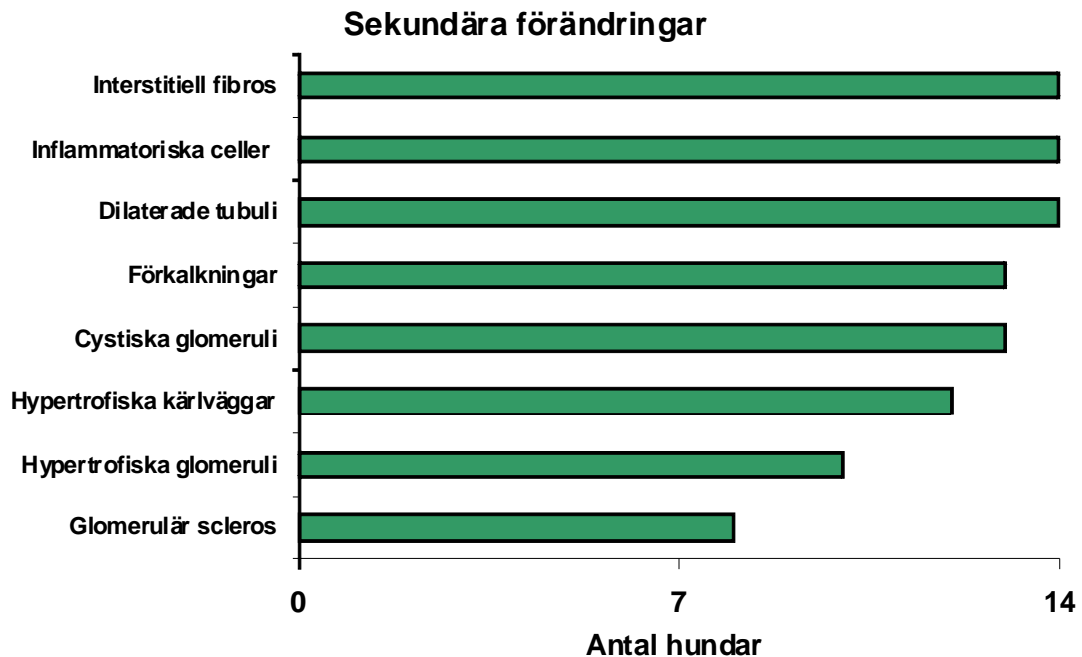


Fig. 13. Sekundära histopatologiska förändringar hos 14 cockerspaniels med renal dysplasi.

En av de 14 hundarna som inkluderats i studien uppvisade förutom tecken på RD i form av tubulär dysplasi av adenomatoid typ också tecken på glomerulonefrit (för beskrivning se nedan).

Av de sju hundar som ingick i det ursprungliga materialet, men som utesluts ur studien p.g.a. att de inte uppfyllde uppsatta kriterier, uppvisade tre hundar tecken på RD, men var >2 år gamla. Hos en av dessa påvisades såväl fetala glomeruli som persisterande primitiva gångstrukturer och persisterande mesenkym, hos en annan enbart tubulär dysplasi av adenomatoid typ och hos den tredje enbart fetala glomeruli. Den sistnämnda hade också en kronisk pyelonefrit. Av de fyra resterande hundarna var en >2 år och hade renal amyloidosis utan tecken på RD. Inte heller hos de tre kvarvarande hundarna, som alla var <2 år, kunde säkra tecken på RD påvisas. Hos dessa noterades istället kronisk glomerulonefrit karakteriserad av följande lesioner: fokal ökning av mesangiellt matrix i glomeruli, partiell förtjockning av GBM, fibrinliknande material i glomeruli, adherenser mellan glomeruli och Bowmans kapsel, periglomerulär fibros samt dilaterade tubuli med proteinhaltigt innehåll. En likartad bild noterades hos den ovan nämnda, i studien inkluderade hunden med tecken på såväl RD som glomerulonefrit. Dessa glomerulära förändringar är förenliga med, men inte diagnostiska för, HN hos cockerspaniel. Samtliga fyra hundar med

glomerulonefrit, vilka var undersökta åren 1987 (n=2), 1988 (n=1) och 1995 (n=1) hade ursprungligen fått diagnosen juvenil progressiv nefropati i den då använda betydelsen njurbarkshypoplasi (nu kallad HN), och inte i den idag använda betydelsen RD.

DISKUSSION

Den här studien av sjukdomen renal dysplasi (RD) hos engelsk cockerspaniel visade att de viktigaste primära histopatologiska förändringarna var fetala glomeruli samt tubulär dysplasi av adenomatoid typ. Även persisterande primitiva gångstrukturer och förekomst av persisterande mesenkym var relativt vanliga fynd. Att fetala glomeruli visade sig vara den vanligaste primära förändringen stämmer väl överens med tidigare studier av RD hos andra hundraser, där frekvensen fetala glomeruli uppgetts vara 80% (flatcoated retriever), 84% (shih tzu), 90% (tibetansk spaniel) respektive 100% (lhasa apso) (Hoppe *et al.* 1990, Picut & Lewis 1987, Wiholm Zander 2003).

I den här studien hade mer än hälften av hundarna (57%) tubulär dysplasi, vilket liknar bilden hos flatcoated retriever, där man i en studie omfattande 30 hundar noterade tubulär dysplasi hos 53% (Wiholm Zander 2003). Hos raserna shih tzu och lhasa apso, har frekvensen tubulär dysplasi visats vara lägre, 45% respektive 14% (Hoppe *et al.* 1990, Picut & Lewis 1987). Persisterande mesenkym däremot, påvisades i en lägre frekvens, 29%, i den här undersökningen av engelsk cockerspaniel än hos raserna shih tzu och lhasa apso, där mesenkym noterats hos 57% av undersökta hundar (Picut & Lewis 1987). Persisterande primitiva gångstrukturer sågs endast hos 14% av hundarna i den här studien vilket stämmer bra överens med vad man tidigare sett hos shih tzu (17%), men är en något lägre frekvens än hos lhasa apso (21%) (Hoppe *et al.* 1990, Picut & Lewis 1987).

Ingen av hundarna i den här undersökningen uppvisade tecken på dysontogen metaplasi. Dysontogen metaplasi är förhållandevis vanligt förekommande vid RD hos människa (Jennette & Spargo 2001). Hos hund är det däremot ett ovanligt fynd som bara gjorts hos enstaka hundar (Picut & Lewis 1987, Hoppe *et al.* 1990).

De sekundära histologiska förändringarna hos de 14 hundarna var kraftiga och ofta utbredda i hela den undersökta njurvävnaden. Infiltration av inflammatoriska celler, interstitiell fibros samt hypertrofi och hyperplasi av glomeruli är de sekundära förändringar som i litteraturen uppgivits vara mest frekvent förekommande vid RD hos hund (Picut & Lewis 1987, Hoppe *et al.* 1990). Alla hundarna i den här studien uppvisade infiltration av inflammatoriska celler (framförallt lymfocyter och plasmaceller) och interstitiell fibros. Den interstitiella fibrosen var vanligen stråkformad i cortex medan den var mer diffust utbredd i medulla. Ett liknande mönster har setts hos hundar med RD även i andra studier (Picut & Lewis 1987). Även hypertrofi och hyperplasi av glomeruli var vanligt förekommande. Dessa glomerulära förändringar är inte specifika för RD utan förekommer även vid andra njurskador och beror på att njuren försöker kompensera för icke-funktionella nefron (Maxie & Newman 2007). Dilaterade tubuli och cystiskt dilaterade glomeruli var också två mycket vanliga sekundära förändringar som förekom hos nästan alla hundarna i den här studien. Det var framförallt tubuli i medulla som var kraftigt dilaterade och de saknade vanligtvis

innehåll. Hos hundarna med glomerulonefrit, däremot innehöll dilaterade tubuli ofta ett homogent, eosinofilt material, indikerande proteinuri. Vid glomerulära skador är det vanligt med proteinuri eftersom protein läcker över GBM, vilket det vanligtvis inte gör vid RD. Cystiskt dilaterade glomeruli var en mycket utbredd förändring som kunde ses i hela cortex. Dessa glomeruli var oftast små samt atrofiska. Till skillnad från fetala glomeruli är atrofiska glomeruli cellfattiga och saknar den typiska kanten av cellkärnor som man ser i fetala glomeruli (se fig. 9). Förekomst av cystiskt dilaterade glomeruli har noterats som vanligt förekommande vid RD även inom andra raser (Picut & Lewis 1987).

I den här studien förekom hos nästan alla hundarna (13/14) kraftiga förkalkningar utspridda i både cortex och medulla. I studier av RD hos andra raser har förkalkningar påvisats, men med en mer begränsad utbredning och i lägre grad än den som noterats hos cockerspaniel (Picut & Lewis 1987, Hoppe et. al 1990). Även hundarna med tecken på glomerulonefrit hade utbredda förkalkningar i njurvävnaden, vilket stämmer överens med de första beskrivningarna av sjukdomen renal cortical hypoplasi hos engelsk cockerspaniel (Krook 1957). I framtiden skulle det vara intressant att titta på flera olika sjukdomar som ger upphov till kronisk njursvikt hos engelsk cockerspaniel för att se om förkalkningar är något som är framträdande även vid andra former av kronisk njursvikt.

Åldersgränsen i den här studien sattes vid 2 år eftersom RD hos andra raser är en sjukdom som drabbar den unga hunden och de drabbade hundarna är oftast under 2 år när de utvecklar symtom (Maxie & Newman 2007). Tecken på RD noterades dock även hos några cockerspaniels som var äldre än 2 år. Anledningen till att RD ibland kan förekomma hos äldre hundar, kan vara att de har endast lindriga eller fokala förändringar, varför de kan leva en längre tid innan symtom på kronisk njursvikt uppträder. Hos shih tzu finns, utöver den juvenila formen, även en form av RD beskriven där hundarna kan leva i flera år med hematologiska tecken på kronisk njursvikt innan de till slut utvecklar kliniska symtom (Hoppe et. al 1990). Den histopatologiska bilden vid dessa båda former av RD är likartad (Hoppe et. al 1990). Det är tänkbart att sjukdomen kan uppträda i den sistnämnda formen med ett mer långsamt kliniskt förlopp även hos cockerspaniel. Detta är dock inget som går att utläsa från den här studien.

När det gäller den kliniska bilden vid RD hos engelsk cockerspaniel skiljde den sig inte åt från den som ses vid andra sjukdomar som ger upphov till kronisk njursvikt. Viktiga kliniska symtom som sågs hos hundarna i studien var polyuri/polydipsi, kräkningar, avmagring, azotemi och anemi.

Båda könen var representerade bland de 14 hundarna i studien, men könsfördelningen var ojämn med ett förhållande mellan hanhundar och tikar på nästan 1:2 (64% tikar). Materialet är dock för litet för att man ska kunna dra några säkra slutsatser av detta. Picut & Lewis (1987) såg i sin studie av RD hos 45 hundar av olika raser att förhållandet mellan hanhundar och tikar generellt var det motsatta, 2:1. Hos några andra hundraser har man dock i tidigare studier av RD sett en viss övervikt av tikar t. ex. shih tzu (60% tikar), flatcoated retriever (87% tikar) och cavalier king charles spaniel (85% tikar) (Hoppe et. al 1990, Wiholm Zander 2003).

Huvudsyftet med den här studien var att beskriva och klassificera typiska histopatologiska förändringar vid RD hos cockerspaniel, för att därefter försöka ta fram diagnostiska kriterier för sjukdomen hos denna ras. Studien visade att när det gäller den histologiska bilden så var det fetala glomeruli och tubulär dysplasi av adenomatoid typ som var vanligast. Fetala glomeruli förekom hos 11 av hundarna och tre av dessa uppvisade enbart denna primära förändring. Fetala glomeruli finns beskrivet hos enstaka cockerspaniels med HN (Steward & Macdougall 1984) och hos bullterrier med HN ses samtidigt förekomst av fetala glomeruli (Hood *et al.* 1995). Detta innebär att förekomst av enbart fetala glomeruli endast kan anses vara ett diagnostiskt kriterium för RD när samtidiga tecken på glomerulonefrit saknas. Hundar som uppvisar fetala glomeruli tillsammans med tecken på glomerulonefrit bör undersökas vidare med avseende på HN. Hos de tre hundarna med enbart fetala glomeruli i den här studien fanns det inga tydliga tecken på glomerulonefrit och varför de fick diagnosen RD.

Tubulär dysplasi sågs hos åtta cockerspaniels i studien varav en hund uppvisade tubulär dysplasi som den enda primära förändringen. Tubulär dysplasi får därför anses diagnostiskt för RD hos cockerspaniel. De tubulära förändringarna sågs framförallt i medulla och var alla av adenomatoid typ. Den adenomatoida typen av tubulär dysplasi kan förväxlas med dilaterade tubuli där epitelet lossnat från sitt basalmembran p.g.a. autolys, och förändringen bör därför bedömas med försiktighet på autolyserat material. Den bör också helst påvisas på fler än ett ställe i njurvävnaden för att diagnosen ska vara säker.

Persisterande mesenkym förekom endast hos fyra av hundarna i den här studien och sågs alltid tillsammans med någon av de andra primära förändringarna. Detta gör att persisterande mesenkym stödjer diagnosen RD hos cockerspaniel, men får anses vara av mindre värde som diagnostiskt kriterium. Rutinmässig färgning med PAS-AB för att bättre åskådliggöra persisterande mesenkym är därför inte nödvändigt för denna ras. Även persisterande primitiva gångstrukturer måste anses stödja diagnosen RD hos cockerspaniel då denna förändring förekom hos två av hundarna i studien. Dysontogen metaplasi är sannolikt inte relevant för diagnostik av RD hos engelsk cockerspaniel då ingen av hundarna i undersökningen uppvisade tecken på denna förändring.

Vid en ultraljudsguidad njurbiopsi åskådliggörs enbart njurens cortex, vilket gör att diagnosen RD hos cockerspaniel bara kan ställas med hjälp av en njurbiopsi i de fall där det förekommer fetala glomeruli och persisterande mesenkym. Vid förekomst av enstaka fetala glomeruli i biopsi från cortex är det viktigt att glomerulonefrit utesluts, något som kan vara svårt då den ultraljudsguidade njurbiopsin är liten och oftast bara innehåller ett fåtal glomeruli. I de fall där det inte finns några fetala glomeruli i njurbiopsin kan RD ändå inte uteslutas eftersom det kan finnas fetala glomeruli i andra delar av njurvävnaden och/eller tubulär dysplasi och primitiva gångstrukturer i medulla. För att diagnosen RD säkert ska kunna ställas eller uteslutas bör både cortex och medulla undersökas på flera olika ställen i njuren, på den levande hunden kan detta endast göras vid en provlapratomi.

Slutsatsen av studien är att de viktigaste diagnostiska kriterierna för RD hos cockerspaniel utgörs av fetala glomeruli och tubulär dysplasi. Vid samtidig förekomst av fetala glomeruli och tecken på glomerulonefrit är dock HN en viktig differentialdiagnos.

För närvarande pågår det forskning om RD där institutionerna för husdjursgenetik och kliniska vetenskaper, SLU, samarbetar med Broad Institute, USA för att försöka hitta de eventuella gendefekter som ligger tillgrund för att RD utvecklas hos framförallt raserna boxer och engelsk cockerspaniel (SLU 2007). I denna och eventuella framtida genetiska studier av RD hos engelsk cockerspaniel är det viktigt att den histopatologiska diagnosen för inkluderade hundar är baserade på säkra diagnostiska kriterier för sjukdomen d.v.s. att fetala glomeruli och/eller tubulär dysplasi finns i njurparenkymet samt att misstanke på HN inte föreligger.

Det skulle vara intressant att titta närmare på de fyra hundarna som uppvisade tecken på glomerulonefrit för att se om man kunde ställa diagnosen HN på dem. Alla fyra hundarna med glomerulonefrit var äldre fall (från slutet av 1980- och början av 1990-talet) som hade fått diagnosen PNP i betydelsen njurbarkshypoplasi, vilket tidigare var benämningen på HN (Krook 1957). Dessa fall hade registrerats som PNP hos Cocker Spaniel klubben, men efter 1995 finns inga fall med glomerulonefrit hos cockerspaniel registrerade som PNP. Det finns för närvarande inga diagnostiserade fall av HN hos cockerspaniel i Sverige, men det kan ändå inte uteslutas att sjukdomen förekommer, eftersom den histopatologiskt sannolikt klassificeras som glomerulonefrit. Att morfologiskt verifiera misstänkt HN kräver elektronmikroskopi, vilket inte är möjligt att utföra på det formalinfixerade material som vanligen skickas in till histopatologiska laboratorier. Detta skulle kunna vara en förklaring till att sjukdomen inte diagnostiserats hos cockerspaniel i Sverige. Det skulle vara intressant att med hjälp av genetiska metoder i en större studie undersöka om vissa cockerspaniels som fått diagnosen glomerulonefrit skulle kunna ha HN.

Renal dysplasi och HN ska alltid finnas med som differentialdiagnoser när en ung cockerspaniel uppvisar kliniska symtom på kronisk njursvikt. För att en korrekt diagnos ska kunna ställas bör, förutom en histopatologisk undersökning, också ett DNA-test för HN göras. De viktigaste diagnostiska kriterierna för RD, vid en histopatologisk undersökning, är förekomst av fetala glomeruli och/eller tubulär dysplasi av adenomatoid typ. Diagnosen styrks ytterligare om persisterande mesenkym och/eller persisterande primitiva gångstrukturer dessutom är närvarande.

TACK

Jag vill först och främst tacka personalen på BioVet AB i Sollentuna för att de tagit fram arkiverade njurpreparat och remisser till min undersökning.

Vill även rikta ett stort tack till personalen på avdelningen för patologi, farmakologi och toxikologi på SLU, som har tagit fram gamla njurpreparat samt i vissa fall gjort nya histologiska snitt och färgat om snitt till min studie.

Sist men inte minst vill jag tacka min handledare Maria Hurst för hennes otroliga engagemang i mitt arbete.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Autran de Morais, H.S., DiBartola, P.S. & Chew, D.J. (1996) Juvenile renal disease in Golden Retrievers: 12 cases (1984-1994). *J Am Vet Med Assoc* 209, 792-797
- Davidsson, A.G., Bell, R.J., Lees, G.E., Kashtan, C.E., Davidson, G.S. & Murphy, K.E. (2007) Genetic Cause of Autosomal Recessive Hereditary Nephropathy in the English Cocker Spaniel. *J Vet Intern Med* 21, 394-401
- Dyce, K.M., Sack, W.O. & Wensing, C.J.G. (2002) *Textbook of Veterinary Anatomy*. 3 ed. Philadelphia: Saunders
- Felkai, Cs., Vörös, K., Vrabely, T., Vetési, F., Karsai, F. & Papp, L. (1997) Ultrasonographic findings of renal dysplasia in cocker spaniels: eight cases. *Acta Veterinaria Hungarica* 45, 397-408
- Greco, D.S. (2001) Congenital and inherited renal disease of small animals. *Veterinary clinics of North America: Small Animal Practice* 31, 393-399
- Hood, J.C., Robinson, W.F., Huxtable, C.R., Bradley, I.S., Sutherland, R.J. & Thomas, M.A.B. (1990) Hereditary nephritis in the bull terrier: evidence for inheritance by an autosomal dominant gene. *Vet Rec* 18, 456-459
- Hood, J.C., Savige, J., Hendtlass, A., Kleppel, M.M., Huxtable, C.R. & Robinson, W.F. (1995) Bull terrier hereditary nephritis: A model for autosomal dominant Alport syndrome. *Kidney Int* 47, 758-765
- Hoppe, A. (1990) Medfödd njursjukdom hos ett flertal hundraser. *Sv Veterinärtidning* 10, 399-402
- Hoppe, A., Swenson, L., Jönsson, L & Hedhammar, A. (1990) Progressive nephropathy due to renal dysplasia in shih tzu dogs in Sweden: A clinical pathological and genetic study. *J Small An Practice* 31, 83-91
- Hoppe, A. & Karlstam, E. (2000) Renal dysplasia in boxers and Finnish harriers. *J Small An Practice* 41, 422-426
- Jennette, J.C & Spargo, B.H. (2001) The Kidney. In: Rubin, E. (Ed.) *Essential Pathology*. 3 ed. 453-454. Pennsylvania, USA.
- Junqueira, L.C. & Carneiro, J. (2003) *Basic Histology*. 10 ed. Kingsport: Lange
- Kashtan, C.E. & Michael, A.F. (1993) Alport Syndrome: From bedside to genome to bedside. *Am J Kidney Dis* 22, 627-640
- Krook, L. (1957) The pathology of renal cortical hypoplasia in the dog. *Nord Vet Med* 9, 161-176
- Lees, G.E. (2007) Juvenile and familial nephropathies. In: Elliott, J. & Grauer, G.F (Ed.) *BSAVA Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology*. 2 ed. 79-85. Dorset UK
- Lees, G.E., Helman, R.G., Kashtan, C.E., Michael, A.F., Homco, L.D., Millichamp, N.J., Ninomiya, Y., Sado, Y., Naito, I. & Kim, Y. (1998a) A model of autosomal recessive Alport syndrome in English cocker spaniel dogs. *Kidney International* 54, 706-719
- Lees, G.E., Helman, R.G., Homco, L.D., Millichamp, N.J., Hunter, J.F. & Frey, M.S. (1998b) Early Diagnosis of Familial Nephropathy in English Cocker Spaniels. *J Am Anim Hosp Assoc* 34, 189-195
- Lees, G.E., Wilson, P.D., Helman, R.G., Homco, L.D. & Frey, M.S. (1997) Glomerular Ultrastructural Findings Similar to Hereditary Nephritis in 4 English Cocker Spaniels. *J Vet Intern Med* 11, 80-85

- Maxie, G.M. & Newman, S.J. (2007) Urinary system. In: Maxie, GM (Ed.) *Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of domestic animals volume 2*. 5 ed. 437-463. Philadelphia: Saunders
- McGavin, M.D., Carlton, W.W. & Zachary, J.F. (2001) *Thomson's Special Veterinary Pathology*. 3 ed. Missouri: Mosby
- Miyamoto, T., Wakizaka, S., Matsuyama, S., Baba, E., Ohashi, F., Kuwamura, M., Yamate, J. & Kotani, T. (1997) A Control of a Golden Retriever with Renal Dysplasia. *J. Vet. Med. Sci.* 59, 939-942
- Morita, T., Michimae, Y., Sawada, M., Uemura, T., Araki, Y., Haruna, A. & Shimada, A. (2005) Renal Dysplasia with Unilateral Renal Agenesis in a Dog. *J. Comp. Path.* 133, 64-67
- Nagata, M., Shibata, S. & Shu, Y. (2002) Pathogenesis of dysplastic kidney associated with urinary tract obstruction *in utero*. *Nephrology Dialysis Transplantation* 17, 37-38
- Noden, D.M. & de Lahunta, A. (1985) *The Embryology of Domestic Animals Developmental Mechanisms and Malformations*. s. 315-317. Baltimore USA: Williams & Wilkins
- Picut, C.A. & Lewis, R.M (1987) Microscopic Features of Canine Renal Dysplasia. *Vet. Pathol.* 24, 156-163
- Polzin, D.J., Osborne, C.A. & Ross, S. (2005) Chronic Kidney Disease. In: Ettinger, S.J. & Feldman, E.C. (Ed.) *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 6 ed. 1756-1785, 1819-1824. Missouri: Saunders
- Sjaastad, Ø.V., Hove, K. & Sand, O. (2003) *Physiology of Domestic Animals*. Oslo: Skandinavian Veterinary Press
- Steward, A.P. & Macdougall, D.F. (1984) Familial nephropathy in the Cocker Spaniel. *J. Small Anim. Practice* 25, 15-24
- Wiholm Zander, A. (2003) *Renal dysplasi hos hund*. EEF-arbete vid veterinärprogrammet. Uppsala: Sveriges lantbruksuniversitet.
- Hemsidor:
- SLU – Institutionen för husdjursgenetik. Hemsida. [online] (2008-09-18) Tillgänglig: http://www.hgen.slu.se/ShowPage.cfm?OrgenhetSida_ID=7496 (2007-09-20)
- SKK – Svenska kennelklubben. Hemsida [online] (2008-09-08) Tillgänglig: <http://skk.se>
- Cocker Spaniel Klubben. Hemsida. [online] (2008-09-10) Tillgänglig: <http://www.cockerklubben.com/pnp.htm>
- OptiGen. Hemsida. [online] (2008-11-17) Tillgänglig: http://www.optigen.com/opt9_ecsfn1215ann.html (2007-10-15)